

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents
United States Patent and Trademark
Office
Box PCT
Washington, D.C.20231
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing:

02 March 2000 (02.03.00)

International application No.:

PCT/JP99/04480

Applicant's or agent's file reference:

YCT-425

International filing date:

20 August 1999 (20.08.99)

Priority date:

21 August 1998 (21.08.98)

Applicant:

OGATA, Etsuro et al

1. The designated Office is hereby notified of its election made:



in the demand filed with the International preliminary Examining Authority on:

20 August 1999 (20.08.99)



in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was



was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Genève 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer:

J. Zahra

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

PCT

世界知的所有権機関
国際事務局

特許協力条約に基づいて公開された国際出願



(51) 国際特許分類6 G01N 33/68	A1	(11) 国際公開番号 WO00/11480 (43) 国際公開日 2000年3月2日(02.03.00)
(21) 国際出願番号 PCT/JP99/04480 (22) 国際出願日 1999年8月20日(20.08.99) (30) 優先権データ 特願平10/236146 1998年8月21日(21.08.98) JP (71) 出願人 ; および (72) 発明者 尾形悦郎(OGATA, Etsuro)[JP/JP] 〒170-8455 東京都豊島区上池袋1-37-1 財団法人 癌研究会附属病院内 Tokyo, (JP) (72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 小泉 満(KOIZUMI, Mitsuru)[JP/JP] 高橋俊二(TAKAHASHI, Shunji)[JP/JP] 〒170-8455 東京都豊島区上池袋1-37-1 財団法人 癌研究会附属病院内 Tokyo, (JP) (74) 代理人 弁理士 社本一夫, 外(SHAMOTO, Ichio et al.) 〒100-0004 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所 Tokyo, (JP)		(81) 指定国 AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM) 添付公開書類 国際調査報告書 請求の範囲の補正の期限前の公開 ; 補正書受領の際には再公開される。
(54)Title: METHOD FOR DIAGNOSING BONE METASTASIS OF MALIGNANT TUMOR (54)発明の名称 悪性腫瘍の骨転移を診断する方法 (57) Abstract Therapeutic effects of drugs on bone metastasis and cancer (mammary cancer, prostatic cancer, lung cancer, etc.) inducing bone metastasis are evaluated by using a marker reflecting the activity of osteoblasts and a marker reflecting the effect of osteoclasts.		

EP

US

PCT

国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
[PCT18条、PCT規則43、44]

出願人又は代理人 の書類記号 YCT-425	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220)及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP99/04480	国際出願日 (日.月.年) 20.08.99	優先日 (日.月.年) 21.08.98
出願人(氏名又は名称) 尾形 悦郎		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 2 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

- a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。
☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。
- b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。
☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。
☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。
☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、
 第 _____ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。 ☒ なし
☐ 出願人は図を示さなかった。
☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
Int. Cl⁶ G01N33/68

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))
Int. Cl⁶ G01N33/68

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1922-1996年
日本国公開実用新案公報 1971-1999年
日本国登録実用新案公報 1994-1999年
日本国実用新案登録公報 1996-1999年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
JICST、BIOSIS

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	小泉 満「癌の骨転移と骨代謝マーカー」CLINICAL CALSIUM, 4月号(1998), P98~100	1-7
Y		8-17
X	高橋俊二、小泉 満「骨代謝マーカーの骨転移診断における意義」Biotherapy, Vol.11, No.1, P75-80(1997)	1-7
Y		8-17
Y	中馬広一ら「骨転移病巣の治療効果判定と骨代謝マーカーと骨転移病状との相関について」Therapeutic Research, Vol.16, No.12, P212-217(1995)	8-17

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

11.16.99

国際調査報告の発送日

28.12.99

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)
郵便番号100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

竹中 靖典

2 J

9507

電話番号 03-3581-1101 内線 3252

**EXACT ENGLISH LANGUAGE
TRANSLATION OF THE PCT
APPLICATION AS
ORIGINALLY FILED**

127

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Translation

Applicant's or agent's file reference YCT-425	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP99/04480	International filing date (day/month/year) 20 August 1999 (20.08.99)	Priority date (day/month/year) 21 August 1998 (21.08.98)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC G01N 33/68		
Applicant OGATA, Etsuro		

<p>1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of <u>3</u> sheets, including this cover sheet.</p> <p><input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).</p> <p>These annexes consist of a total of _____ sheets.</p>	
<p>3. This report contains indications relating to the following items:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report</p> <p>II <input type="checkbox"/> Priority</p> <p>III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</p> <p>IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</p> <p>VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited</p> <p>VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application</p> <p>VIII <input type="checkbox"/> Certain observations on the international application</p>	

Date of submission of the demand 20 August 1999 (20.08.99)	Date of completion of this report 16 May 2000 (16.05.2000)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP99/04480

I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the international application:*

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:
 pages _____, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the claims:
 pages _____, as originally filed
 pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the drawings:
 pages _____, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the sequence listing part of the description:
 pages _____, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP99/04480

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	8-17	YES
	Claims	1-7	NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-17	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-17	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

Claims 1-7

Document 1: M. Koizumi, "Bone metastasis of cancer and osteal metabolism marker," Clinical Calcium, May 1998, pages 98-100

Document 2: S. Takahashi, M. Koizumi, "Significance of osteal metabolism marker for diagnosing bone metastasis," Biotherapy, Vol. 11, No. 1, 1997, pages 75-80

Documents 1 and 2 describe a diagnostic method for bone metastasis of malignant tumors that uses a marker that reflects the activity of osteoblasts and a marker that reflects the activity of osteoclasts.

They also describe PICP, PINP, osteocalcin and BALP as markers that reflect osteoblast activity, and they describe the use of bone type-I collagen as a marker that reflects osteoclast activity.

Claims 8-17

Document 3: H. Nakane et al. "Correlation among the measurement of therapeutic effects on bone metastasis foci, osteal metabolism marker and the condition of bone metastasis," Therapeutic Research, Vol. 16, No. 12, 1995, pages 212-217

Document 3 describe a means of determining the effect of drug therapy using a marker that reflects osteoblast activity and a marker that reflects osteoclast activity.

It is obvious for persons skilled in the art to prepare an invention such as the one in this application by utilizing the markers described in documents 1 and 2 in the method for determining the effect of drug therapy described in document 3.

(51) 国際特許分類6 G01N 33/68	A1	(11) 国際公開番号 WO00/11480 (43) 国際公開日 2000年3月2日(02.03.00)
(21) 国際出願番号 PCT/JP99/04480 (22) 国際出願日 1999年8月20日(20.08.99) (30) 優先権データ 特願平10/236146 1998年8月21日(21.08.98) JP (71) 出願人 ; および (72) 発明者 尾形悦郎(OGATA, Etsuro)[JP/JP] 〒170-8455 東京都豊島区上池袋1-37-1 財団法人 癌研究会附属病院内 Tokyo, (JP) (72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 小泉 満(KOIZUMI, Mitsuru)[JP/JP] 高橋俊二(TAKAHASHI, Shunji)[JP/JP] 〒170-8455 東京都豊島区上池袋1-37-1 財団法人 癌研究会附属病院内 Tokyo, (JP) (74) 代理人 弁理士 社本一夫, 外(SHAMOTO, Ichio et al.) 〒100-0004 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所 Tokyo, (JP)		(81) 指定国 AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM) 添付公開書類 国際調査報告書 請求の範囲の補正の期限前の公開 ; 補正書受領の際には再公開される。
(54)Title: METHOD FOR DIAGNOSING BONE METASTASIS OF MALIGNANT TUMOR (54)発明の名称 悪性腫瘍の骨転移を診断する方法 (57) Abstract Therapeutic effects of drugs on bone metastasis and cancer (mammary cancer, prostatic cancer, lung cancer, etc.) inducing bone metastasis are evaluated by using a marker reflecting the activity of osteoblasts and a marker reflecting the effect of osteoclasts.		

(57)要約

骨芽細胞の活性を反映するマーカーおよび破骨細胞の作用を反映するマーカーを用いて骨転移およびかかる骨転移を惹起する乳癌、前立腺癌、肺癌等の癌に対する薬剤の治療効果を診断する。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE	アラブ首長国連邦	DM	ドミニカ	KZ	カザフスタン	RU	ロシア
AL	アルバニア	EE	エストニア	LC	セントルシア	SD	スーダン
AM	アルメニア	ES	スペイン	LI	リヒテンシュタイン	SE	スウェーデン
AT	オーストリア	FI	フィンランド	LK	スリ・ランカ	SG	シンガポール
AU	オーストラリア	FR	フランス	LR	リベリア	SI	スロヴェニア
AZ	アゼルバイジャン	GA	ガボン	LS	レソト	SK	スロヴァキア
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB	英国	LT	リトアニア	SL	シエラ・レオネ
BB	バルバドス	GD	グレナダ	LU	ルクセンブルグ	SN	セネガル
BE	ベルギー	GE	グルジア	LV	ラトヴィア	SZ	スワジランド
BF	ブルキナ・ファソ	GH	ガーナ	MA	モロッコ	TD	チャード
BG	ブルガリア	GM	ガンビア	MC	モナコ	TG	トーゴ
BJ	ベナン	GN	ギニア	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BR	ブラジル	GW	ギニア・ビサウ	MG	マダガスカル	TZ	タンザニア
BY	ベラルーシ	GR	ギリシャ	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア共和国	TM	トルクメニスタン
CA	カナダ	HR	クロアチア	ML	マリ	TR	トルコ
CF	中央アフリカ	HU	ハンガリー	MN	モンゴル	TT	トリニダード・トバゴ
CG	コンゴ	ID	インドネシア	MR	モーリタニア	UA	ウクライナ
CH	スイス	IE	アイルランド	MW	マラウイ	UG	ウガンダ
CI	コートジボワール	IL	イスラエル	MX	メキシコ	US	米国
CM	カメルーン	IN	インド	NE	ニジェール	UZ	ウズベキスタン
CN	中国	IS	アイスランド	NL	オランダ	VN	ヴェトナム
CR	コスタ・リカ	IT	イタリア	NO	ノールウェー	YU	ユーゴスラビア
CJ	キューバ	JP	日本	NZ	ニュージーランド	ZA	南アフリカ共和国
CY	キプロス	KE	ケニア	BT	ボートランド	ZW	ジンバブエ
CU	キューバ	KG	キルギスタン				

悪性腫瘍の骨転移を診断する方法

技術分野

- 5 本発明は、乳癌、前立腺癌、肺癌等に伴う骨転移を診断する方法、これらの疾患を治療するための薬剤の治療効果を判定する方法に関する。

背景技術

- 10 癌による骨転移の診断は、従来より臨床症状、単純X線、骨シンチグラフィ、CT、MRIなどの画像診断により行われている。画像的には、骨転移は溶骨型、骨硬化型、混合型に分類されるが、骨転移の部分での溶骨と造骨のバランスをみているわけである。画像診断法は診断能は高く有用であるが、概して高額でありスクリーニングや経過観察には適していない。

- 15 近年、骨代謝学の進歩により様々な骨代謝マーカーの開発がなされている。表1に骨形成マーカーと骨吸収マーカーを示した。これらの骨代謝マーカーでの癌の骨転移診断の試みが行われている(Koizumi, M., et al., Bone metabolic markers in bone metastases (骨転移における骨代謝マーカー) ; J. Cancer Res. and Clin. Oncol., 121: 542~548, 1995)。

表 1

<p>骨形成マーカー</p> <p>① I 型プロコラーゲンペプチド…… proliferation C 端プロペプチド (P I C P) N 端プロペプチド (P I N P)</p> <p>② アルカリホスファターゼ…… matrix formation 総アルカリホスファターゼ (A L P) 骨型アルカリホスファターゼ (B A L P)</p> <p>③ オステオカルシン (O C) …… mineralization C 端断片 中間部 I n t a c t</p>
<p>骨吸収マーカー</p> <p>① pyridinium 架橋 尿中総ピリジノリン・デオキシピリジノリン (H P L C 法) 尿中遊離デオキシピリジノリン (f D P D)</p> <p>② pyridinium 架橋結合コラーゲンペプチド断片 血中 C 端テロペプチド (I C T P) 尿中 C 端テロペプチド (C T x) 尿中 N 端テロペプチド (N T x)</p> <p>③ 酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ (T R A P)</p> <p>④ galactosyl hydroxylysine (G H Y L)</p> <p>⑤ ハイドロキシプロリン</p> <p>⑥ N 端オステオカルシン</p>

骨代謝マーカーのうち多くのものは、骨基質の 90% を占める I 型コラーゲンの形成、吸収過程で血液中および尿中に放出された代謝産物を測定することにより成り立っている。すなわち、骨形成に伴い合成される I 型プロコラーゲンが I 型コラーゲンへと変換される際に放出される C 端、N 端プロペプチドは、骨形成

5 のマーカーとなる。また、骨吸収の過程では、骨基質中の I 型コラーゲンが代謝を受け血液中や尿中に放出される。これらを測定することにより骨吸収のマーカーにしようとするものである。

骨形成は、骨芽細胞の増殖、分化の過程で大きく分けて3つの相に分かれることが知られている。すなわち、骨芽細胞増殖期およびマトリックス形成期、マトリックス成熟期、および石灰化期であり、各々の相で現れるマーカーが異なることが知られている (Stein, G. S., et al. : Relationship of cell growth to the regulation of tissue-specific gene expression during osteoblast differentiation (骨芽細胞分化の過程における組織特異的遺伝子発現の調節に対する細胞成長の関係) ; FASEB J, 4: 3111~3123, 1990)。

骨芽細胞増殖期およびマトリックス形成期ではI型コラーゲンが盛んに形成され、C端、N端のプロペプチドが血中に現れる。マトリックス成熟期には、骨でのアルカリホスファターゼ (BALP) の生成が盛んになり、この時期には血液中にBALPが分泌される。石灰化期には、オステオカルシン (OC) が出現する。このOCを欠損させたマウスでは骨形成が亢進し、OCが骨形成の抑制物質として働くことを示唆する (Ducy, P., et al. : Increased bone formation in osteocalcin-deficient mice (オステオカルシン欠乏マウスにおける骨形成増大) ; Nature, 382: 448~452, 1996)。

なお、表1の骨形成マーカーの欄において、①のproliferationが骨芽細胞増殖期およびマトリックス形成期に、②のmatrix formationがマトリックス成熟期に、③のmineralizationが石灰化期にそれぞれ対応する。

骨形成のマーカーは前述のごとく様々あるが、病態により挙動が異なることがあり、各マーカーがどの相で現れるかを理解しておくことが重要である。

骨吸収マーカーには様々なものがあるが、最近注目されているものはやはりI型コラーゲンの代謝産物である。I型コラーゲンは三重鎖構造をもつコラーゲンがピリジノリンおよびデオキシピリジノリンにより架橋された形で存在するため、骨吸収によりI型コラーゲンが破壊された時に、様々な大きさのN端およびC端の終末アミノ酸のついたピリジノリンおよびデオキシピリジノリン架橋部が血液中に放出される。

骨吸収のマーカーとして測定されているものには、架橋部のみを測定するもの (尿中ピリジノリンおよびデオキシピリジノリン；遊離しているもののみを測定

する)、C端のアミノ酸を含めた部分を測定するもの(CTXやICTP)、N
端のアミノ酸を含めた部分を測定するもの(NTx)などがある。骨代謝マー
カーの一般的な詳細については、Calvoらの総説(Calvo, M. S. et al. ;
Molecular basis and clinical application of biological markers of bone
5 turnover(骨ターンオーバーの生物学的マーカーの分子的基礎および臨床応用) ;
Endocrine Rev. , 17 : 333 ~ 368 , 1996) に詳しく記
載されている。

骨転移における骨代謝マーカーは、骨粗鬆症などの代謝性の骨疾患とやや異な
る動きをする。骨形成マーカーでは、PICP、BALPの上昇が骨硬化型の骨
10 転移の代表である前立腺癌骨転移でみられるが、骨粗鬆症などで上昇するオステ
オカルシンはあまり増加しない。その機序については現在不明である。混合型の
骨転移を呈する乳癌においては、骨形成マーカーの上昇はみられるが、前立腺癌
ほどではない。溶骨型の骨転移の多い肺癌においては、骨形成マーカーはあまり
増加しない。

15 骨吸収マーカーでは、ICTPは他の骨代謝マーカーと異なり閉経ではあまり
変化しないが、癌の骨転移では増加することが判明している。骨転移検出の観点
からはICTPは閉経期の骨吸収亢進の影響を受けないよいマーカーといえよう。
骨吸収マーカーは、溶骨型の多い肺癌骨転移で増加するだけでなく、混合型の多
い乳癌、さらには骨硬化型の前立腺癌においても増加する。

20

発明の開示

骨代謝マーカーの分野の研究は進歩が著しいが、マーカーの十分な比較検討は
なされていないのが現状であり、様々な骨吸収と骨形成マーカーがあり、骨転移
の診断において現時点でどのマーカーが最もよいかは断定できない。

25 また、骨転移の臨床診断においてどのマーカーを用いるかは各医師の判断に委
ねられているため、骨転移を総合的にモニターしていく手法は未だ確立されてい
ない。

本発明の目的は、骨転移を総合的にモニターしていくツールを提供する点にあ
る。

本発明者らは、このような状況に鑑み、骨転移を総合的にモニターしていくツールを開発すべく鋭意研究を重ねた結果、骨芽細胞の活性を反映するマーカー（骨形成マーカー）および破骨細胞の作用を反映するマーカー（骨吸収マーカー）を組み合わせることによって上記目的を達成することができることを見だし、この知見に基づいて本発明を完成した。

すなわち、本発明は、骨芽細胞の活性を反映するマーカーおよび破骨細胞の作用を反映するマーカーを用いることを特徴とする悪性腫瘍の骨転移を診断する方法を提供する。

また、本発明は、骨芽細胞の活性を反映するマーカーおよび破骨細胞の作用を反映するマーカーを用いて薬剤の治療効果を判定する方法を提供する。

図面の簡単な説明

図1は、骨芽細胞の分化に伴う種々のマーカーの発現を示す図である。

図2は、骨転移を伴う前立腺癌患者に対する化学療法剤の効果とP I C P、B A L P およびオステオカルシンとの関係を示すグラフである。

図3は、乳癌患者におけるB A L P およびオステオカルシンのクロスオーバーインデックスを表すグラフである。

図4は、乳癌の治療過程におけるI C T P 値の変化を示すグラフである。

20 発明を実施実施するための最良の形態

以下に本発明を完成するための基礎となった知見について記載する。

(1) 骨芽細胞から産生される骨形成マーカー：

図1に示すように、骨芽細胞の分化に伴い、マーカーの発現はP I C P およびP I N P（タイプIプロコラーゲンペプチド）からB A L P（骨アルカリホスファターゼ）へ、さらにオステオカルシンへと変化する（Stein, G. S., et al.; F A S E B J, 4 : 3 1 1 1 ~ 3 1 2 3, 1 9 9 0）。

(2) 骨転移を有する前立腺癌患者および乳癌患者における化学療法に対するB A L P およびオステオカルシンの反応：

骨転移の状態によって(1)の2つの骨形成マーカーのレベルが異なることを

以下の2つの実施例によって確認した。

実施例 1

1994年10月から1996年4月の間に、骨転移を有する前立腺癌患者4
5 3名、骨転移なしの前立腺癌患者46名を対象として、骨形成マーカーのレベル
を調べた。明らかに骨転移なしの前立腺癌患者46名のうち、29名は前立腺切
除または放射線治療を受けた経験があり、その他の17名は新たに診断を受けた
患者であり、骨シンチと血清サンプリングの後で前立腺切除または放射線治療を
受けた。骨転移なしの患者の平均年齢は69歳（年齢範囲47歳－85歳）であ
10 った。これらの患者の癌の進行度合は、4名の患者がステージA、14名の患者
がステージB、19名の患者がステージC、9名の患者がステージD1であった。
一方、骨転移を有する患者43名のうち、9名は新たに診断を受けて、骨シンチ
と血清サンプリングの後でホルモン療法を受けていた。その他の34名の患者は
ホルモン療法および／または化学療法による積極的な治療をこれらの療法の開始
15 時から種々の間隔で受けていた。骨転移を有する患者の平均年齢は69歳（年齢
範囲53歳－83歳）であった。

すべての患者に関して、インフォームドコンセントが得られた後、骨シンチの
際に採血して血清を分離し、分析を行うまで－40℃で冷凍保存した。血清中の
BALPをアルクファーズBキット（ALKPHASE-B kit, Metra Biosystems）を
20 用いたエンザイムイムノアッセイ（免疫測定法）で測定した。また、血清中のオ
ステオカルシンは三菱 BGP-IRMA キット（三菱化学）を用いたイムノラジオメト
リックアッセイ（放射免疫測定法）で測定した。

結果を図2に示す。図2において、Z値とは（測定値－骨転移がない患者の平
均値）／（骨転移がない患者の標準偏差値）で定義される値である。また、図2
25 においてCR、flare、NC、IMP、new、PDはそれぞれ下記の意味
を有する。

・CR: complete remission（完全寛解）。

・flare: flare up（実際には治療が有効であったにもかかわらず、

bone scan (骨シンチ) の画像上で
骨転移が進行した様にみられたもの)。

- ・NC: no change (変化が認められなかったもの)。
- ・IMP: improvement (改善の兆候が認められたもの)。
- 5 ・new: 新たに骨転移ありと診断されたもの。
- ・PD: progression of disease (疾患の進行がみられたもの)。

10 BALPおよびオステオカルシンについての上記各群におけるZ値は以下の通りであった。

BALPのZ値

	CR:	2.18
	flare:	3.40
15	NC:	8.23
	IMP:	2.39
	new:	1.82
	PD:	24.50

20 オステオカルシンのZ値

	CR:	1.30
	flare:	-0.18
	NC:	0.04
	IMP:	1.25
25	new:	0.08
	PD:	0.05

これらの値を用いてオステオカルシンとBALPとの各群におけるクロスオーバーインデックスを算出した。

クロスオーバーインデックス

CR: 0. 5 9 6
 flare: -0. 0 5 3
 NC: 0. 0 0 5
 5 IMP: 0. 5 2 3
 new: 0. 0 4 4
 PD: 0. 0 0 2

上記から明らかなように、BALPについては治療をして効果があつたCRで
 10 はZ値が低く(2. 18)、悪化したPDではZ値が高い(24. 50)ことが
 分かった。一方、オステオカルシンについては治療をして効果があつたCRでは
 Z値が高く(1. 30)、悪化したPDではZ値が低い(0. 05)ことが分か
 った。CRのクロスオーバーインデックスは0. 596であるのに対して、PD
 のクロスオーバーインデックスは0. 002であることから、両者は著しい差を
 15 有することが認められた。このことから、クロスオーバーインデックスにより骨
 転移の進行度合および薬剤による治療効果の程度を診断することが可能である。

実施例2

実施例1と同様にして、骨転移を有する乳癌患者644例、骨転移なしの乳癌
 20 患者206例、合計850例の乳癌患者を対象として、骨形成マーカー(BAL
 Pおよびオステオカルシン)のレベルを調べた。骨転移を有する患者においては、
 骨転移部位への化学療法または内分泌療法の治療効果により、CR、NC、IM
 P、new、PD群に分類し、それぞれの群のBALPのZ値およびオステオカ
 ルシンのZ値を求めた。さらに、これらのZ値から各々の群についてクロスオー
 25 バーインデックスを算出した。

すべての患者に関して、インフォームドコンセントを得た後、骨シンチの際に
 採血して血清を分離し、測定を行うまで-40℃で冷凍保存した。血清中のBA
 LPはアルクファーゼ-Bキット(ALKPHASE-B kit, Metra Biosystems)を用い
 たエンザイムイムノアッセイ(免疫測定法)で測定した。また、血清中のオステ

オカルシンは、三菱 BGP-IRMA キット（三菱化学）を用いたイムノラジオメトリックアッセイ（放射免疫測定法）で測定した。結果を以下に示す。

BALPのZ値

5 CR: 0. 7 4 1
 NC: 1. 5 1 4
 IMP: 0. 7 3 5
 new: 2. 0 2 1
 PD: 5. 0 4 1

10

オステオカルシンのZ値

 CR: 0. 2 6 7
 NC: 0. 2 3 7
 IMP: 0. 0 3 9
15 new: -0. 1 6 7
 PD: 0. 5 1 6

クロスオーバーインデックス

 CR: 0. 3 6 0
20 NC: 0. 1 5 7
 IMP: 0. 0 5 3
 new: -0. 0 8 3
 PD: 0. 1 0 2

25 図3にCR、NC、IMP、newおよびPDにおけるクロスオーバーインデックスをグラフで示す。

図3から明らかなように、治療をして効果があったCRのクロスオーバーインデックスは0. 3 6 0であるのに対して、悪化したPDのクロスオーバーインデックスは0. 1 0 2であることから、両者は著しい差を有することが認められた。

このことから、乳癌の場合もクロスオーバーインデックスにより骨転移の進行度合および薬剤による治療効果の程度を診断することが可能である。

上記実施例 1 および 2 の結果により、骨転移があり、薬剤による治療効果がある場合（CR）はクロスオーバーインデックスが高く、効果がなく悪化している
5 場合（PD）はクロスオーバーインデックスが低いことが示された。したがって、骨転移の改善度合（治療効果）を見るには骨芽細胞のマーカーによるクロスオーバーインデックスが極めて有効であることが裏付けられた。

一方、前立腺癌においてはCRとIMP、NCとPDのクロスオーバーインデックスが近接しており、造骨性が主体となる前立腺癌の骨転移に対する治療効果
10 を反映している。しかしながら、乳癌においては、NCとPDは近接しているものの、CRとIMPは近接しておらず、前立腺癌とは若干異なる結果である。このことは乳癌が造骨性素因もあるものの、溶骨性素因が強い骨転移像を呈することからこのような差が生じたものと考えられる。したがって、骨転移の進行度合（増悪度合）をより正確に診断するためには、骨形成マーカーだけではなく、骨
15 吸収マーカーの測定も必要と考えられる。

上記実施例 1 および 2 においては石灰化期に関連するマーカーであるオステオカルシンとマトリックス成熟期に関連するマーカーであるBALPとのクロスオーバーインデックスを測定することによって、悪性腫瘍の骨転移の進行度合および薬剤による治療効果の程度についての診断を行った。さらに、本発明者らは、
20 石灰化期に関連するマーカーであるオステオカルシンと骨芽細胞増殖期およびマトリックス形成期に関連するマーカーであるPICPまたはPINPとのクロスオーバーインデックスを測定することによっても悪性腫瘍の骨転移の進行度合および薬剤による治療効果の程度についての診断を行うことが可能であることを確認している。石灰化期に関連するマーカーであればオステオカルシン以外のマ
25 ーカーも用いることができ、骨芽細胞増殖期およびマトリックス形成期に関連するマーカーであればPICPおよびPINP以外のマーカーも用いることができ、マトリックス成熟期に関連するマーカーであればBALP以外のマーカーも用いることができることは言うまでもない。

これまでに、骨形成マーカーは幾つか同定され、個々別々に測定されてきてお

り、骨芽細胞の分化・成熟に従って、産生される時期が異なることは知られていた。しかし、骨転移の指標として、どの骨形成マーカーに限定して測定したら、「骨芽細胞の分化・成熟が癌の骨転移によって抑制される」ことを反映するのは、明確にされていなかった。上記クロスオーバーインデックスという指標から
5 骨転移の進行度合および薬剤による治療効果の程度を把握するということは従来技術からは予測し得ないことであった。

一方、癌転移による骨破壊は、破骨細胞によって行われる。その際の骨吸収マーカーとしては、幾つかが知られているが、骨転移の程度（悪性度）および治療による骨破壊の抑制効果は、ICTP（タイプIコラーゲンカルボキシ末端テロ
10 ペプチド）という比較的大きな分子量のコラーゲン代謝物を同定することにより明確となり、ICTPがマーカーとして優れている（例えば、The Bone, Vol. 10, No. 3, p. 111~118, 1996を参照）。以下に、ICTPを利用した骨転移の程度および治療による骨破壊の抑制効果に関する実施例を示す。

15

実施例3：乳癌治療におけるICTPのレベル

骨転移に対する化学療法剤の併用療法（シクロホスファミド、ドキソルビシン
および5-フルオロウラシル：CAF）を受けた23名の乳癌患者についてICTPのレベルを測定した。なお、補助療法としてCAFを受けた骨転移のない9
20 名の乳癌患者を対照群とした。

すべての患者からインフォームドコンセントを得た後、骨形成および骨吸収を示す骨代謝マーカーを測定した。CAF治療開始時およびCAF治療が終わるまで毎月1回骨シンチの際に採血して血清を分離した。分離した血清は分析を行うまで-40℃で冷凍保存した。骨形成マーカーとしてBALPをエンザイムイム
25 ノアッセイ（ALKPHASE-B kit, Metra Biosystems）によって測定した。骨吸収マーカーとしてICTPをラジオイムノアッセイ（Orion Diagnostica）によって測定した。また、血清中のCA 15-3をイムノラジオメトリックアッセイ（Centocor）によって測定した。得られた測定値は平均およびSE（標準誤差）で表した。Bonferroni法による分散分析（ANOVA）を用いて有意

差検定を行った。

結果を図4に示す。図4から、PR (partial response) およびNCの患者のICTP値と比較してPDの患者のICTP値は有意に上昇した。フレア (flare) の患者のICTP値はPDの患者の場合よりも有意に低下し、NC患者およびflare-upなしのPR患者のICTP値と相違しなかった。なお、図4における、PD、フレア (flare) およびNCは実施例1の場合と同じ意味を有する。PRとは、部分的に治療効果の認められたものを意味する。

10 5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 95 100 105 110 115 120 125 130 135 140 145 150 155 160 165 170 175 180 185 190 195 200 205 210 215 220 225 230 235 240 245 250 255 260 265 270 275 280 285 290 295 300 305 310 315 320 325 330 335 340 345 350 355 360 365 370 375 380 385 390 395 400 405 410 415 420 425 430 435 440 445 450 455 460 465 470 475 480 485 490 495 500 505 510 515 520 525 530 535 540 545 550 555 560 565 570 575 580 585 590 595 600 605 610 615 620 625 630 635 640 645 650 655 660 665 670 675 680 685 690 695 700 705 710 715 720 725 730 735 740 745 750 755 760 765 770 775 780 785 790 795 800 805 810 815 820 825 830 835 840 845 850 855 860 865 870 875 880 885 890 895 900 905 910 915 920 925 930 935 940 945 950 955 960 965 970 975 980 985 990 995 1000 1005 1010 1015 1020 1025 1030 1035 1040 1045 1050 1055 1060 1065 1070 1075 1080 1085 1090 1095 1100 1105 1110 1115 1120 1125 1130 1135 1140 1145 1150 1155 1160 1165 1170 1175 1180 1185 1190 1195 1200 1205 1210 1215 1220 1225 1230 1235 1240 1245 1250 1255 1260 1265 1270 1275 1280 1285 1290 1295 1300 1305 1310 1315 1320 1325 1330 1335 1340 1345 1350 1355 1360 1365 1370 1375 1380 1385 1390 1395 1400 1405 1410 1415 1420 1425 1430 1435 1440 1445 1450 1455 1460 1465 1470 1475 1480 1485 1490 1495 1500 1505 1510 1515 1520 1525 1530 1535 1540 1545 1550 1555 1560 1565 1570 1575 1580 1585 1590 1595 1600 1605 1610 1615 1620 1625 1630 1635 1640 1645 1650 1655 1660 1665 1670 1675 1680 1685 1690 1695 1700 1705 1710 1715 1720 1725 1730 1735 1740 1745 1750 1755 1760 1765 1770 1775 1780 1785 1790 1795 1800 1805 1810 1815 1820 1825 1830 1835 1840 1845 1850 1855 1860 1865 1870 1875 1880 1885 1890 1895 1900 1905 1910 1915 1920 1925 1930 1935 1940 1945 1950 1955 1960 1965 1970 1975 1980 1985 1990 1995 2000 2005 2010 2015 2020 2025 2030 2035 2040 2045 2050 2055 2060 2065 2070 2075 2080 2085 2090 2095 2100 2105 2110 2115 2120 2125 2130 2135 2140 2145 2150 2155 2160 2165 2170 2175 2180 2185 2190 2195 2200 2205 2210 2215 2220 2225 2230 2235 2240 2245 2250 2255 2260 2265 2270 2275 2280 2285 2290 2295 2300 2305 2310 2315 2320 2325 2330 2335 2340 2345 2350 2355 2360 2365 2370 2375 2380 2385 2390 2395 2400 2405 2410 2415 2420 2425 2430 2435 2440 2445 2450 2455 2460 2465 2470 2475 2480 2485 2490 2495 2500 2505 2510 2515 2520 2525 2530 2535 2540 2545 2550 2555 2560 2565 2570 2575 2580 2585 2590 2595 2600 2605 2610 2615 2620 2625 2630 2635 2640 2645 2650 2655 2660 2665 2670 2675 2680 2685 2690 2695 2700 2705 2710 2715 2720 2725 2730 2735 2740 2745 2750 2755 2760 2765 2770 2775 2780 2785 2790 2795 2800 2805 2810 2815 2820 2825 2830 2835 2840 2845 2850 2855 2860 2865 2870 2875 2880 2885 2890 2895 2900 2905 2910 2915 2920 2925 2930 2935 2940 2945 2950 2955 2960 2965 2970 2975 2980 2985 2990 2995 3000 3005 3010 3015 3020 3025 3030 3035 3040 3045 3050 3055 3060 3065 3070 3075 3080 3085 3090 3095 3100 3105 3110 3115 3120 3125 3130 3135 3140 3145 3150 3155 3160 3165 3170 3175 3180 3185 3190 3195 3200 3205 3210 3215 3220 3225 3230 3235 3240 3245 3250 3255 3260 3265 3270 3275 3280 3285 3290 3295 3300 3305 3310 3315 3320 3325 3330 3335 3340 3345 3350 3355 3360 3365 3370 3375 3380 3385 3390 3395 3400 3405 3410 3415 3420 3425 3430 3435 3440 3445 3450 3455 3460 3465 3470 3475 3480 3485 3490 3495 3500 3505 3510 3515 3520 3525 3530 3535 3540 3545 3550 3555 3560 3565 3570 3575 3580 3585 3590 3595 3600 3605 3610 3615 3620 3625 3630 3635 3640 3645 3650 3655 3660 3665 3670 3675 3680 3685 3690 3695 3700 3705 3710 3715 3720 3725 3730 3735 3740 3745 3750 3755 3760 3765 3770 3775 3780 3785 3790 3795 3800 3805 3810 3815 3820 3825 3830 3835 3840 3845 3850 3855 3860 3865 3870 3875 3880 3885 3890 3895 3900 3905 3910 3915 3920 3925 3930 3935 3940 3945 3950 3955 3960 3965 3970 3975 3980 3985 3990 3995 4000 4005 4010 4015 4020 4025 4030 4035 4040 4045 4050 4055 4060 4065 4070 4075 4080 4085 4090 4095 4100 4105 4110 4115 4120 4125 4130 4135 4140 4145 4150 4155 4160 4165 4170 4175 4180 4185 4190 4195 4200 4205 4210 4215 4220 4225 4230 4235 4240 4245 4250 4255 4260 4265 4270 4275 4280 4285 4290 4295 4300 4305 4310 4315 4320 4325 4330 4335 4340 4345 4350 4355 4360 4365 4370 4375 4380 4385 4390 4395 4400 4405 4410 4415 4420 4425 4430 4435 4440 4445 4450 4455 4460 4465 4470 4475 4480 4485 4490 4495 4500 4505 4510 4515 4520 4525 4530 4535 4540 4545 4550 4555 4560 4565 4570 4575 4580 4585 4590 4595 4600 4605 4610 4615 4620 4625 4630 4635 4640 4645 4650 4655 4660 4665 4670 4675 4680 4685 4690 4695 4700 4705 4710 4715 4720 4725 4730 4735 4740 4745 4750 4755 4760 4765 4770 4775 4780 4785 4790 4795 4800 4805 4810 4815 4820 4825 4830 4835 4840 4845 4850 4855 4860 4865 4870 4875 4880 4885 4890 4895 4900 4905 4910 4915 4920 4925 4930 4935 4940 4945 4950 4955 4960 4965 4970 4975 4980 4985 4990 4995 5000 5005 5010 5015 5020 5025 5030 5035 5040 5045 5050 5055 5060 5065 5070 5075 5080 5085 5090 5095 5100 5105 5110 5115 5120 5125 5130 5135 5140 5145 5150 5155 5160 5165 5170 5175 5180 5185 5190 5195 5200 5205 5210 5215 5220 5225 5230 5235 5240 5245 5250 5255 5260 5265 5270 5275 5280 5285 5290 5295 5300 5305 5310 5315 5320 5325 5330 5335 5340 5345 5350 5355 5360 5365 5370 5375 5380 5385 5390 5395 5400 5405 5410 5415 5420 5425 5430 5435 5440 5445 5450 5455 5460 5465 5470 5475 5480 5485 5490 5495 5500 5505 5510 5515 5520 5525 5530 5535 5540 5545 5550 5555 5560 5565 5570 5575 5580 5585 5590 5595 5600 5605 5610 5615 5620 5625 5630 5635 5640 5645 5650 5655 5660 5665 5670 5675 5680 5685 5690 5695 5700 5705 5710 5715 5720 5725 5730 5735 5740 5745 5750 5755 5760 5765 5770 5775 5780 5785 5790 5795 5800 5805 5810 5815 5820 5825 5830 5835 5840 5845 5850 5855 5860 5865 5870 5875 5880 5885 5890 5895 5900 5905 5910 5915 5920 5925 5930 5935 5940 5945 5950 5955 5960 5965 5970 5975 5980 5985 5990 5995 6000 6005 6010 6015 6020 6025 6030 6035 6040 6045 6050 6055 6060 6065 6070 6075 6080 6085 6090 6095 6100 6105 6110 6115 6120 6125 6130 6135 6140 6145 6150 6155 6160 6165 6170 6175 6180 6185 6190 6195 6200 6205 6210 6215 6220 6225 6230 6235 6240 6245 6250 6255 6260 6265 6270 6275 6280 6285 6290 6295 6300 6305 6310 6315 6320 6325 6330 6335 6340 6345 6350 6355 6360 6365 6370 6375 6380 6385 6390 6395 6400 6405 6410 6415 6420 6425 6430 6435 6440 6445 6450 6455 6460 6465 6470 6475 6480 6485 6490 6495 6500 6505 6510 6515 6520 6525 6530 6535 6540 6545 6550 6555 6560 6565 6570 6575 6580 6585 6590 6595 6600 6605 6610 6615 6620 6625 6630 6635 6640 6645 6650 6655 6660 6665 6670 6675 6680 6685 6690 6695 6700 6705 6710 6715 6720 6725 6730 6735 6740 6745 6750 6755 6760 6765 6770 6775 6780 6785 6790 6795 6800 6805 6810 6815 6820 6825 6830 6835 6840 6845 6850 6855 6860 6865 6870 6875 6880 6885 6890 6895 6900 6905 6910 6915 6920 6925 6930 6935 6940 6945 6950 6955 6960 6965 6970 6975 6980 6985 6990 6995 7000 7005 7010 7015 7020 7025 7030 7035 7040 7045 7050 7055 7060 7065 7070 7075 7080 7085 7090 7095 7100 7105 7110 7115 7120 7125 7130 7135 7140 7145 7150 7155 7160 7165 7170 7175 7180 7185 7190 7195 7200 7205 7210 7215 7220 7225 7230 7235 7240 7245 7250 7255 7260 7265 7270 7275 7280 7285 7290 7295 7300 7305 7310 7315 7320 7325 7330 7335 7340 7345 7350 7355 7360 7365 7370 7375 7380 7385 7390 7395 7400 7405 7410 7415 7420 7425 7430 7435 7440 7445 7450 7455 7460 7465 7470 7475 7480 7485 7490 7495 7500 7505 7510 7515 7520 7525 7530 7535 7540 7545 7550 7555 7560 7565 7570 7575 7580 7585 7590 7595 7600 7605 7610 7615 7620 7625 7630 7635 7640 7645 7650 7655 7660 7665 7670 7675 7680 7685 7690 7695 7700 7705 7710 7715 7720 7725 7730 7735 7740 7745 7750 7755 7760 7765 7770 7775 7780 7785 7790 7795 7800 7805 7810 7815 7820 7825 7830 7835 7840 7845 7850 7855 7860 7865 7870 7875 7880 7885 7890 7895 7900 7905 7910 7915 7920 7925 7930 7935 7940 7945 7950 7955 7960 7965 7970 7975 7980 7985 7990 7995 8000 8005 8010 8015 8020 8025 8030 8035 8040 8045 8050 8055 8060 8065 8070 8075 8080 8085 8090 8095 8100 8105 8110 8115 8120 8125 8130 8135 8140 8145 8150 8155 8160 8165 8170 8175 8180 8185 8190 8195 8200 8205 8210 8215 8220 8225 8230 8235 8240 8245 8250 8255 8260 8265 8270 8275 8280 8285 8290 8295 8300 8305 8310 8315 8320 8325 8330 8335 8340 8345 8350 8355 8360 8365 8370 8375 8380 8385 8390 8395 8400 8405 8410 8415 8420 8425 8430 8435 8440 8445 8450 8455 8460 8465 8470 8475 8480 8485 8490 8495 8500 8505 8510 8515 8520 8525 8530 8535 8540 8545 8550 8555 8560 8565 8570 8575 8580 8585 8590 8595 8600 8605 8610 8615 8620 8625 8630 8635 8640 8645 8650 8655 8660 8665 8670 8675 8680 8685 8690 8695 8700 8705 8710 8715 8720 8725 8730 8735 8740 8745 8750 8755 8760 8765 8770 8775 8780 8785

請 求 の 範 囲

1. 骨芽細胞の活性を反映するマーカーおよび破骨細胞の作用を反映するマーカーを用いることを特徴とする悪性腫瘍の骨転移の診断方法。
- 5 2. 骨芽細胞の活性を反映するマーカーとして、
 - (1) 骨芽細胞増殖期およびマトリックス形成期に関連するマーカーならびに石灰化期に関連するマーカー、あるいは
 - (2) マトリックス成熟期に関連するマーカーおよび石灰化期に関連するマーカー
- 10 3. 骨芽細胞の活性を反映するマーカーとして、
 - (1) P I C PもしくはP I N Pおよびオステオカルシン、あるいは
 - (2) B A L Pおよびオステオカルシンを用いる、請求項1記載の診断方法。
- 15 4. 破骨細胞の作用を反映するマーカーとして骨Ⅰ型コラーゲンに関連するマーカーを用いる、請求項1～3のいずれか1項記載の診断方法。
5. 破骨細胞の作用を反映するマーカーとしてデオキシピリジノリンおよび／またはI C T Pを用いる、請求項1～4のいずれか1項記載の診断方法。
- 20 6. 石灰化期に関連するマーカーと骨芽細胞増殖期およびマトリックス形成期に関連するマーカーとの比（クロスオーバーインデックス）の値、および破骨細胞の作用を反映するマーカーの測定値に基づくか、あるいは、石灰化期に関連するマーカーとマトリックス成熟期に関連するマーカーとの比（クロスオーバーインデックス）の値、および骨Ⅰ型コラーゲンに関連するマーカーの測定値に基づく、請求項1～5のいずれか1項記載の診断方法。
- 25 7. オステオカルシンとP I C PもしくはP I N Pとのクロスオーバーインデックスの値、およびI C T Pの測定値に基づくか、あるいは、オステオカルシンとB A L Pとのクロスオーバーインデックスの値、およびI C T Pの測定値に基づく、請求項6記載の診断方法。
8. 骨芽細胞の活性を反映するマーカーおよび破骨細胞の作用を反映するマ-

カーを用いることを特徴とする薬剤の治療効果を判定する方法。

9. 薬剤が抗癌性化学療法剤である請求項8記載の方法。

10. 薬剤が骨吸収抑制剤である請求項8記載の方法。

11. 薬剤が内分泌療法剤である請求項8記載の方法。

5 12. 骨芽細胞の活性を反映するマーカーとして、

(1) 骨芽細胞増殖期およびマトリックス形成期に関連するマーカーならびに石灰化期に関連するマーカー、あるいは

(2) マトリックス成熟期に関連するマーカーおよび石灰化期に関連するマーカー

10 を用いる、請求項8～11のいずれか1項記載の方法。

13. 骨芽細胞の活性を反映するマーカーとして、

(1) PICPもしくはPINPおよびオステオカルシン、あるいは

(2) BALPおよびオステオカルシン

を用いる、請求項8～12のいずれか1項記載の方法。

15 14. 破骨細胞の作用を反映するマーカーとして骨I型コラーゲンに関連するマーカーを用いる、請求項8～13のいずれか1項記載の方法。

15. 破骨細胞の作用を反映するマーカーとしてデオキシピリジノリンおよび／またはICTPを用いる、請求項8～14のいずれか1項記載の方法。

20 16. 石灰化期に関連するマーカーと骨芽細胞増殖期およびマトリックス形成期に関連するマーカーとの比（クロスオーバーインデックス）の値、および骨I型コラーゲンに関連するマーカーの測定値に基づくか、あるいは、石灰化期に関連するマーカーとマトリックス成熟期に関連するマーカーとの比（クロスオーバーインデックス）の値、および骨I型コラーゲンに関連するマーカーの測定値に基づく、請求項8～15のいずれか1項記載の方法。

25 17. オステオカルシンとPICPもしくはPINPとのクロスオーバーインデックスの値、およびICTPの測定値に基づくか、あるいは、オステオカルシンとBALPとのクロスオーバーインデックスの値、およびICTPの測定値に基づく、請求項16記載の方法。

図 2

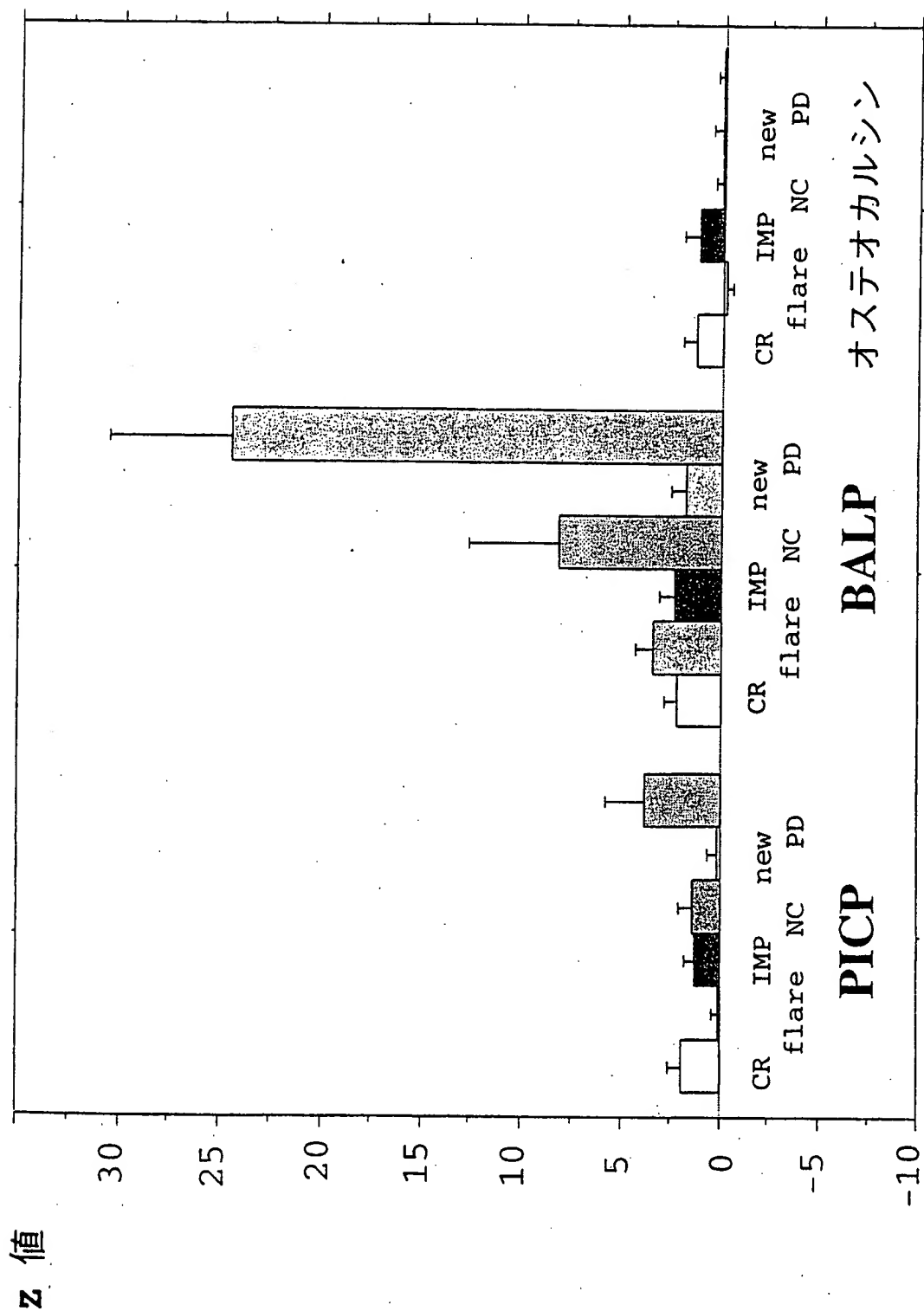


図 3

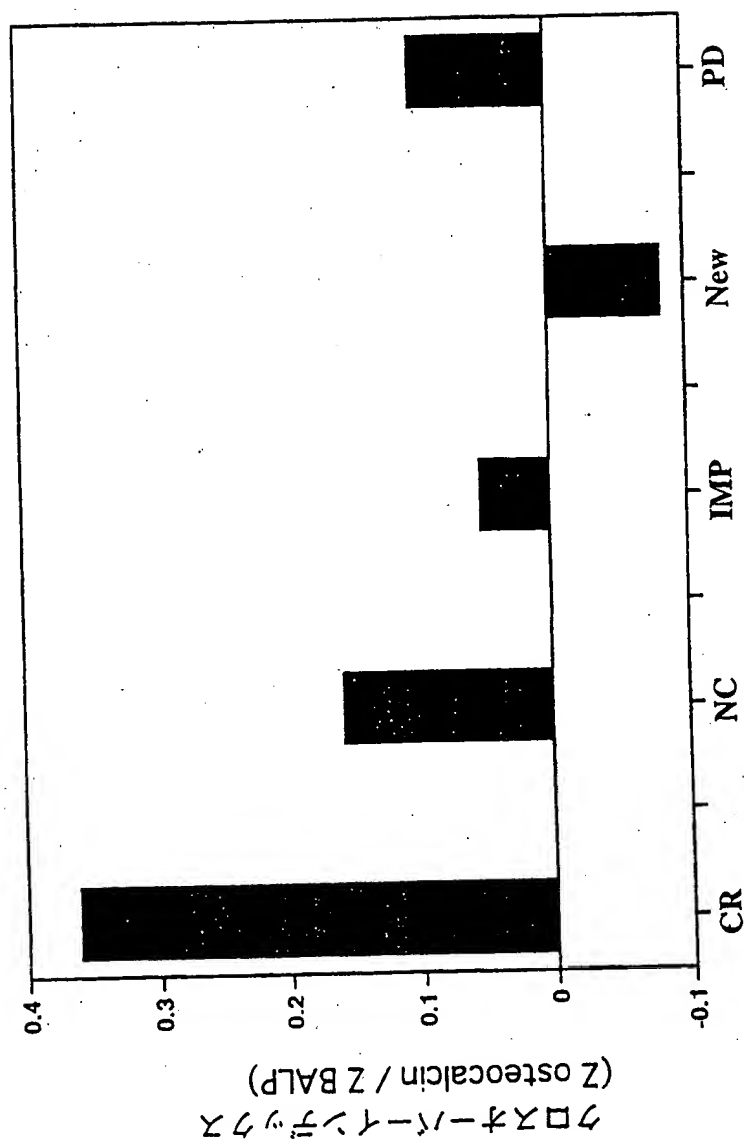
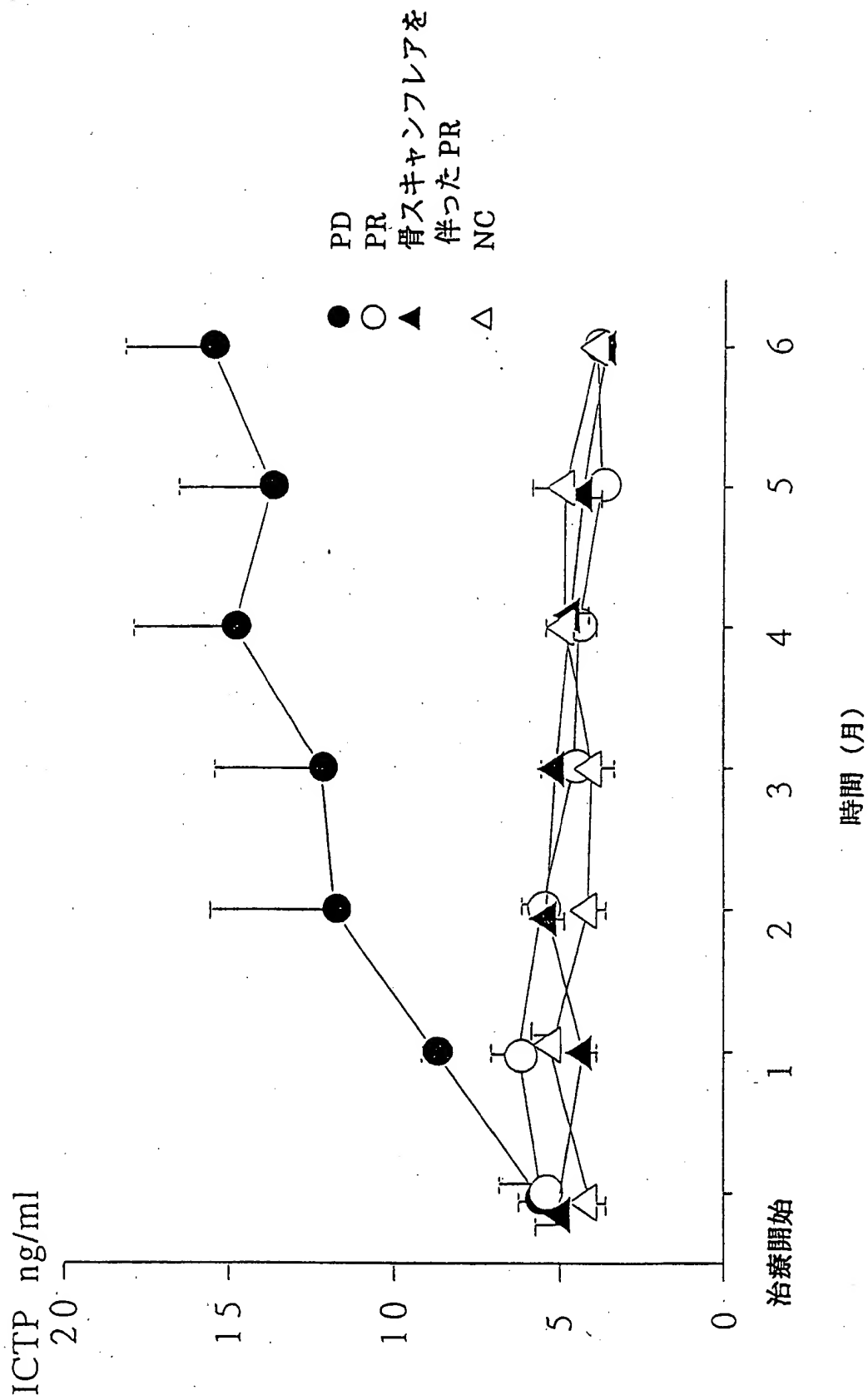


図 4



A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
Int. Cl⁶ G01N33/68

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))
Int. Cl⁶ G01N33/68

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1922-1996年
日本国公開実用新案公報 1971-1999年
日本国登録実用新案公報 1994-1999年
日本国実用新案登録公報 1996-1999年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
JICST、BIOSIS

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	小泉 満「癌の骨転移と骨代謝マーカー」CLINICAL CALSIUM, 4月号(1998), P98~100	1-7
Y		8-17
X	高橋俊二、小泉 満「骨代謝マーカーの骨転移診断における意義」Biotherapy, Vol.11, No.1, P75-80(1997)	1-7
Y		8-17
Y	中馬広一ら「骨転移病巣の治療効果判定と骨代謝マーカーと骨転移病状との相関について」Therapeutic Research, Vol.16, No.12, P212-217(1995)	8-17

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

11.16.99

国際調査報告の発送日

28.12.99

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)
郵便番号100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

竹中 靖典



2J

9507

電話番号 03-3581-1101 内線 3252